

OLIGOSACCHARIDE DERIVATIVE HAVING ANTIINFLAMMATORY AND ANTIALLERGIC ACTION

Publication number: JP5178876
Publication date: 1993-07-20
Inventor: OSAWA NOBUO; TAKAHASHI YASUO; KATO KAZUO;
NISHIJIMA KAZUMI
Applicant: MOCHIDA PHARM CO LTD
Classification:
- international: A61K31/70; A61K31/7012; A61K31/7024;
A61K31/7028; A61P29/00; A61P37/08; A61P43/00;
C07H7/033; C07H13/06; C07H15/10; C12N9/99;
A61K31/70; A61K31/7012; A61K31/7024;
A61K31/7028; A61P29/00; A61P37/00; A61P43/00;
C07H7/00; C07H13/00; C07H15/00; C12N9/99; (IPC1-
7): A61K31/70; C07H7/033; C07H13/06; C07H15/10;
C12N9/99
- european:
Application number: JP19910346911 19911227
Priority number(s): JP19910346911 19911227

Report a data error here

Abstract of JP5178876

PURPOSE: To obtain the subject derivative, having antiallergic, antiinflammatory and hyaluronidase inhibiting actions and useful as an antiallergic agent, etc. **CONSTITUTION:** The objective glucuronic acid derivative having 2-8 constituent units expressed by formula I {R₁ is H, protecting group or formula II, with the proviso that OR" may be trans-bond, etc., with respect to COOR<4> of the glucuronic acid derivative when R<1> is H or protecting group and R<1> indicates group expressed by formula II [R<10>, R<12> and R<13> are H or protecting group; R<11> is azide or formula III (R<14> and R<15> are same as R<10>)] when R<1> is formula II; R<2> to R<8> are same as R<10>; R<9> is H, protecting group or formula IV (R<16> to R<19> are same as R<10>); (n) is 0-4, with the proviso that R<1> is formula II and R<9> is formula IV when (n) is 0; R<1> and R<9> are H or protecting group when (n) is 4, with the proviso that the protecting group is 1-8C alkyl, etc., which may be substituted}, an oligosaccharide having a galactosamine derivative, its salt, solvate or solvate of the salt, e.g. 4-O-(2-acetamido-2-deoxy-beta-D- galactopyranosyl)-D-glucopyranuronic acid. The compound expressed by formula I is obtained by reacting, e.g. a basic unit expressed by formula V (R is releasable group, etc.; N<1> is N-containing group) with a basic unit expressed by formula VI.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

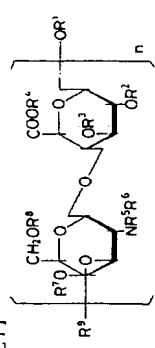
(19)日本特許庁 (J P) (12) 公 開 特 許 公 報 (A) (11)特許出願公開番号
特開平5-178876
(43)公開日 平成5年(1993)7月20日

(51)Int.Cl. ⁴	識別記号	所内整理番号	F I	技術表示箇所
C 07 H 7/033 A 61 K 31/70	ABE ABF AED	8314-4C		
C 12 N 9/59				

(21)出願番号	特願平3-346911	(71)出願人	000181147 特田製薬株式会社 東京都新宿区四谷1丁目7番地
(22)出願日	平成3年(1991)12月27日	(72)発明者	大 澤 伸 雄 東京都新宿区四谷一丁目7番地 特田製薬株式会社内
		(72)発明者	高 橋 靖 雄 東京都新宿区四谷一丁目7番地 特田製薬株式会社内
		(72)発明者	加 藤 和 夫 東京都新宿区四谷一丁目7番地 特田製薬株式会社内
		(74)代理人	弁理士 飯沼 望 彦 (外1名) 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗炎症・抗アレルギー作用を有するオリゴ糖誘導体

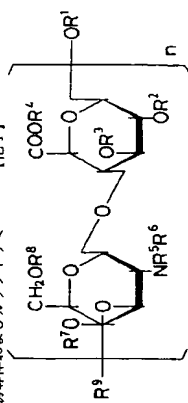
(57)【要約】
【構成】一般式 (1)
【化1】



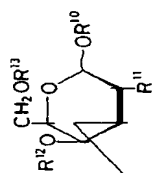
(式)中、R¹は水素原子、ガラクトサミン誘導体または特定の基を表し、R²からR⁸は同一または異なる水素原子または特定の基を表し、R⁹は、水素原子、グルクロン誘導体または特定の基を表し、nは0から4の整数を表す。で表される構成単位2〜8個からなるオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物、およびそれらを有効成分として含有する抗アレルギー剤、抗炎症剤またはヒアルロニダーゼ阻害剤。
【効果】本発明のオリゴ糖誘導体は、抗アレルギー作用、抗炎症作用およびヒアルロニダーゼ阻害作用を有し、医薬として有用である。

【特許請求の範囲】

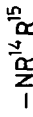
【請求項1】下配式 (1) で表される構成単位2〜8個からなる、グルクロン誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物、式 (11)
【化1】



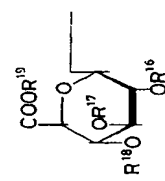
【式 (1) 中、R¹ は水素原子、保護基または下記式 (11) を表す。ただし、R¹ が水素原子または保護基である場合、OR¹ はグルクロン誘導体のCOOR⁴ に対してトランス結合またはシス結合であってもよい。また、R¹ が式 (11) である場合、式 (11) 【化2】



式 (11) 中、R¹⁰、R¹¹ およびR¹² は同一または異なる水素原子または保護基を表し、R¹¹ は、アジド基または下記式 (111) を表す。式 (111)
【化3】



式 (111) 中、R¹⁴ およびR¹⁵ は、同一または異なる水素原子または保護基を表す。式 (11) 中、R² からR⁸ は同一または異なる水素原子または保護基を表す。式 (1) 中、R⁹ は、水素原子、保護基または下記式 (11V) を表す。式 (11V)
【化4】



(式 (11V) 中、R¹⁸ からR²⁰ は同一または異なる水素原子または保護基を表す。式 (1) 中、nは0から4の整数を表す。ただし、nが0のとき、R¹ は式 (11) で表される基であり、R⁹ は式 (11V) で表される基である。nが4のとき、R¹ およびR⁹ は同一または異なる水素原子または保護基である。) : 式 (1) ~ (11V) 中、保護基は互いに同一または異なる水素原子または分枝鎖のアルキル、置換されていてもよい炭素

原子数2から8の直鎖または分枝鎖のアルケニル、置換されていてもよい炭素原子数1から8の直鎖または分枝鎖のアシル、置換されていてもよい芳香族アシル、または、置換されていてもよい芳香族アルキルである。またさらに、R¹ を除くR¹ からR¹⁹ の任意の保護基2つが一緒になって、置換されていてもよい炭素原子数3から8のアルキリデン、置換されていてもよい炭素原子数3から8の環状アルキリデン、置換されていてもよいベンジリデン、または、置換されていてもよいフタロイルである。】

【請求項2】前記式 (1) ~ (11V) において、R¹ が水素原子または前記式 (11) で表される基であり、R² からR⁸ およびR⁹ からR¹⁴ が水素原子であり、R⁹ が水素原子または前記式 (11V) で表される基であり、R¹⁰、R¹²、R¹³ およびR¹⁵ からR¹⁹ が水素原子であり、R² およびR¹⁴ がアセチル基である請求項1に記載のグルクロン誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項3】前記構成単位が2個である請求項1に記載のグルクロン誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項4】前記構成単位が3個である請求項1に記載のグルクロン誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項5】前記構成単位が4個である請求項1に記載のグルクロン誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項6】前記式 (1) において、R⁹ が水素原子または保護基であり、nが1である請求項1に記載のグルクロン誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

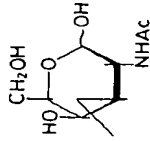
【請求項7】前記式 (1) において、R¹ からR⁴ およびR⁹ からR¹⁴ が水素原子であり、R⁵ がアセチル基である請求項6に記載のグルクロン誘導体およびガラクトサミン誘導体

ミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項8】前記式(1)において、R¹が下記式

(V): 式(V)

【化5】



で表される基であり、R²からR⁴およびR⁶からR⁷が水素原子であり、R⁵がアセチル基である請求項6に記載のグルコロン酸誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項9】請求項1に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項10】請求項2に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項11】請求項3に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項12】請求項4に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項13】請求項5に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項14】請求項6に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項15】請求項7に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項16】請求項8に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【請求項17】請求項9に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【請求項18】請求項2に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【請求項19】請求項3に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【請求項20】請求項4に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【請求項21】請求項5に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【請求項22】請求項6に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【請求項23】請求項7に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【請求項24】請求項8に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギン性疾患治療剤および抗炎症剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】産業上の利用分野 本発明は、抗炎症・抗アレルギー作用を有するオリゴ糖誘導体である、構成単糖単位2〜8個からなるグルコロン酸誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物に関するものであり、さらにそれら有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤、アレルギン性疾患および抗炎症剤に関するものである。

【0002】従来の技術 既存の抗アレルギー剤、抗炎症剤としては、例えば、抗ヒスタミン剤であるジフェンヒドラミン、クロルフェニラミンなど、気管支喘息治療剤であるクロモグリク酸ナトリウム、トラニラスト、副腎皮質ステロイド剤であるヒドロコルチゾン、プレドニゾンなど、非ステロイド抗炎症剤であるインドメタシン、メフエナム酸などがある。しかし、これらの薬剤は、臨床問題となる副作用を有している。例えば抗ヒスタミン剤は鎮静作用、眠気、口渇、悪心および嘔吐などの副作用を示すことが知られており、副腎皮質ステロイドは副腎皮質機能低下などの強い副作用を示すことが知られている。副作用が少なく、活性的強い薬物が望まれているのが現状である。

【0003】近年、既存の抗アレルギー剤であるクロモグリク酸ナトリウム(以下、DSCGと略す)、トラニラスト、既存の抗炎症剤であるインドメタシン、インドメタシンなどにヒアルロニダーゼ阻害作用があり、その阻害作用が治療効果の一翼を担っていることが示唆されて

いる「ケミカル ファーマシチカル プリテン (Chem. Pharm. Bull.)」33巻、642頁(1985年)および炎症4巻、437頁(1984年)」。従って、ヒアルロニダーゼの活性を阻害する化合物を探索することは、新しい抗アレルギー作用、抗炎症作用を有する化合物を見出す一つの指針となり得るものである。

【0004】ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸を加分解する作用を有する酵素である。ヒアルロン酸は、ム多糖類の一種で、D-グルコロン酸とN-アセチル-D-グルコサミンから構成され、動物組織の細胞間質に多く、関節液、皮膚その他の結合組織に存在し、微生物や植物の侵入、伝播および癌細胞の転移の防止などに役立っていると考えられている。また、ヒアルロン酸は脊椎動物の卵細胞の外膜にも存在し、受精に際してヒアルロニダーゼで分解されると、精子の侵入が可能となる。

【0005】一方ヒアルロニダーゼは、起炎酵素の一種であると考えられており、炎症およびアレルギー、特に1型アレルギー反応に関与し、肥満細胞からの脱顆粒反応を支配する酵素であるともいわれている。また、哺乳動物では精子に存在し、受精に関与していることが知られている。また、ある種の病原菌は、ヒアルロニダーゼに侵入することが知られている。従って、ヒアルロニダーゼを阻害する化合物は、抗アレルギー作用、抗炎症作用をはじめとして、例えば、避妊作用、癌転移抑制および抗腫瘍作用などの分野での利用が期待できる。

【0006】本発明は、ヒアルロニダーゼ阻害作用、抗アレルギー作用および抗炎症作用を有し、医薬として有用なオリゴ糖に関するものであり、関連する先行技術としては次のようなものがある。バイオケミカル アンド バイオフィジカル リサーチ コミュニケーション (Biochem. Biophys. Res. Commun.) 25巻、239頁(1966年)は、NMRによる糖のコンホメーション固定に関するものであり、グルクロン酸(以下、適宜GlcAと略す)およびN-アセチルガラクトサミン(以下、適宜GalNAcと略す)からなるGlcA(β1-3)GalNAc(β1-4)GlcA(β1-3)GalNAcが開示されているが、医薬としての用途の記載はない。カルボハイドレート リサーチ (Carbohydr. Res.) 15巻、300頁(1970年)は、GlcA(β1-3)GalNAcの記載があるが、塩基性条件による加水分解に関するもので、医薬としての用途の記載はない。西ドイツ特許DE2521765には、D-グルクロン酸が癌および胃などの癌の炎症および二次的に生じるアレルギー性皮膚炎、乾癬などに有効であるとの記載があるが、具体的な薬理データの開示はない。さらに、単糖

のみの開示であり、オリゴ糖に関する記載はない。フランス特許FR249452には、抗アレルギー・抗炎症および抗ヒスタミン作用を有するガラクトソロン酸メチルの記載があるが、具体的な薬理データの開示はない。また、単糖のみの開示であり、オリゴ糖に関する記載はない。特許昭59-501906号公報には、血凝阻、動脈硬化などに有効なガラクトサミンとグルクロン酸の交互配列を有するオリゴ糖およびその製法が記載されているが、ヒアルロニダーゼ阻害作用、抗アレルギー作用および抗炎症作用に関する記載はない。特開昭62-402号公報には、ガラクトサミンとグルクロン酸の交互配列を有するグリコサミノグリカンの硫酸化方法および硫酸化グリコサミノグリカンのうち、特に、構成単糖単位数が8以下の物質が、糸球体腎炎、リウマチ性関節炎およびアレルギー性症状として現れるある種の過敏性症状のとき特定形態の免疫不均衡に起因する過敏性症状の有効である旨の記載がある。しかしながら、アレルギー性疾患モデルに対する有効性、ヒアルロニダーゼ阻害作用などについては開示がない。また、硫酸化されていないグリコサミノグリカンについては、原料としての記載があるのみで、その薬理活性については何も開示がない。特開昭62-36394号公報には、消毛剤などとして有効なエステル化グルクロン酸とヘキサミンの交互配列を有する個数オリゴ糖の記載があるが、奇数のオリゴ糖については記載がなく、また、ヒアルロニダーゼ阻害作用、抗アレルギー作用および抗炎症作用の記載はない。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、抗炎症・抗アレルギー作用を有するオリゴ糖誘導体を提供することである。さらに本発明は、該オリゴ糖誘導体を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤、アレルギー性疾患治療剤および抗炎症剤を提供するものである。

【0008】

【課題を解決するための手段】 前記課題を解決するため、本発明者らは化学合成したフラグメントおよび各種ム多糖を切断、単離したフラグメントの性状および薬理作用について検討した結果、本発明のオリゴ糖誘導体に、強力な抗アレルギー作用、抗炎症作用およびヒアルロニダーゼ阻害作用を見だし、本発明を完成するに至った。

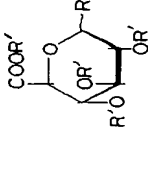
【0009】すなわち、本発明の第1態様は、下記式(1)で表される構成単糖単位2〜8個からなる、グルクロン酸誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を提供することである。式(1)

【化6】

(式 (XIV) 中、R は脱離基またはOR' で表される基を表し、R' は水素原子または保護基を表す)、N¹ は窒素含有基を表す) で表される基本単位およびD-グルクロン酸構造を有する、下記式 (XV) :

【0039】式 (XV)

【化23】



(式中 (XV) 中、R は脱離基またはOR' で表される基を表し、R' は水素原子または保護基を表す) で表される基本単位とするものであり、これら基本単位を適宜反応させ、必要に応じてさらに適宜処理することにより本発明のオリゴ糖が合成される。

【0040】合成に用いる基本単位のいずれか一つはアルコールであり、このアルコール官能基の水酸基が式 (XIV) の場合には3、4または6位のいずれかに存在し、式 (XV) の場合には2、3または4位のいずれかに存在している。残りの基本単位の方は、活性化されたアノマー炭素を有している。これら2つの基本単位を用いることにより、本発明の構造を有するグリコシル結合を形成させ、二糖類を得ることができる。同様にして、さらに式 (XIV) の化合物または式 (XV) の化合物を適宜反応させることにより、本発明の構成単位数を有するオリゴ糖を合成することができる。式 (XIV) 中の炭素含有基N¹ は、好ましくはN-フタルイミドもしくはアジド基を有しているか、または、アミンの官能基前にはN-アセチル等を有している方がよい。式 (XV) の化合物のカルボキシ基は、グリコシル形成の際にはアルキル、置換アルキル、置換されていてもよい芳香族アルキル等で保護されていることが望ましい。また、このカルボキシ基は、中性糖をグリコシル化に用い、グリコシル結合を形成後、第一般アルコールの選択的脱保護および酸化によっても得ることができるカルボキシ基でもよい。

【0041】基本単位のうち、グリコシル反応に関与する、活性化されたアノマー炭素を有する基本単位は、そのアノマー炭素以外のすべての位置が、水酸基、アミノ基、カルボキシ基またはこれらの前駆体を保持し、これらが同一または異なる保護基によって保護されているものを用いる。また、一方、グリコシル結合形成に関与する水酸基を有する基本単位は、その水酸基以外のすべての位置が水酸基、アミノ基、カルボキシ基またはこれらの前駆体を保持し、これらが同一または異なる保護基によって保護されているものを用いる。グリコシル反応に用いるアノマー炭素の活性化された基本単位には、ハ

ビター (以下UT1と記す。) などの、コンドロイチンまたはコンドロイチン硫酸を有するグリコサミノグリカンなどを出発原料として以下の方法によっても得ることができる。例えば、UT1を出発原料とする場合には、UT1を、メタロエンドペプターゼで処理することにより糖ペプチドであるフラグメント1が得られる。このフラグメント1をアルカリ処理することにより、糖鎖ラグメント2が得られる。さらに、フラグメント2をノイラミニダーゼ処理することによりフラグメント3が得られる。このフラグメント3をさらに低分子量化する目的で、適当な条件下でヒアルロンダーゼ処理することにより、非還元末端にD-グルクロン酸を有し、構成単位数の数が偶数 (例えば4、6、8個など) であるフラグメント4が得られる。フラグメント4を、β-グルクロニダーゼ処理することにより、非還元末端にN-アセチル-D-グルコサミンを有し、構成単位数の数が奇数 (例えば3、5、7個など) であるフラグメント5が得られる。フラグメント5を、N-アセチル-β-ヘキシサミニダーゼ処理することにより、非還元末端にD-グルクロン酸を有し、構成単位数の数が偶数 (例えば2、4、6個など) であるフラグメント6が得られる。なお上記の各工程で得られるフラグメントは、常法によるゲル透過の手法を用いて、容易に精製し、目的とするオリゴ糖を得ることができる。

【0044】これらのオリゴ糖は、コンドロイチン酸、コンドロイチンなどのムコ多糖を出発原料としても、同様に得ることができる。なお、出発原料となるコンドロイチン硫酸は、市販のものを購入するか、または、例えばバイオケミカル プレパレーションズ (Biochem. Preparations) 10巻、52頁 (1963年) に記載された方法により、軟骨から抽出して得ることができる。コンドロイチンは、市販のものを購入するか、または例えばカルボハイドレートリサーチ (Carbohydr. Res.) 46巻、87頁 (1976年) に記載の方法に準じて、コンドロイチン硫酸を脱硫酸することにより得ることができる。また、これらのムコ多糖の化学的分解により、あるいは市販から化学的に合成することにより得ることもできる。また、得られたフラグメントを適宜化学処理することにより、任意の置換基を有するオリゴ糖を合成することもできる。例えば、N-アセチルコンドロシンは、ジャーナル オブ バイオロジカル ケミストリー (J. Biol. Chem.) 240巻、92頁 (1965年) に記載された方法によりコンドロイチン硫酸から得られたコンドロシンまたは市販のコンドロシンを出発原料として、同文獻に記載された方法により合成することができる。一般に、ムコ多糖をヒyaluronダーゼで処理した場

ラグメントを定量的に得ることはできない。本発明では、ヒアルロニダーゼ処理に、β-グルクロニダーゼおよびN-アセチル-β-ヘキシサミニダーゼを適宜組み合わせることにより、任意の構成数数を有する四糖類および奇数個のフラグメントを得る方法を開示するものである。また、ムコ多糖を、上記の方法で処理して得られたフラグメントは、酢素の認識部位の特異性から、還元末端はD-ガラクトサミン残基となる。還元末端がD-グルクロン酸のフラグメントは、単糖から化学合成することにより得ることができる。また、化学合成では、単糖または二糖を適宜結合させることができる。適当な鎖長を有するオリゴ糖を定量的に得ることができる。

【0045】本発明のオリゴ糖誘導体は、コンドロイチン硫酸、ヒト尿由来の物質であるUT1などを出発原料として得ることができる。コンドロイチン硫酸は、腎炎、腰痛などの治療薬として上市されており、UT1は、急性腎炎、急性腎不全などの治療薬として上市されている。本発明のオリゴ糖は、これらを分解、精製することによっても得られるものであり、その際、本発明のオリゴ糖の安全性は高い。

【0046】次に、本発明の第2態様について述べる。本発明の第2態様は第1態様に記載のグルクロン酸誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤である。第2態様の阻害剤中に含まれる、第1態様の第3態様の含有量は、目的とする阻害作用の効果により適宜選択される。第2態様に含まれてもよい他の成分については、阻害剤の作用を失活しないものであればよい。本発明の第2態様である阻害剤はヒアルロニダーゼ阻害作用は、以下に示す実験例などにより確認することができる。【0047】また、本発明の第3態様は第1態様に記載のグルクロン酸誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアレルギー性疾患治療および抗炎症作用である。第3態様のアレルギー性疾患治療および抗炎症作用を失活しないものであればよい。本発明の第3態様の抗アレルギー作用作用および抗炎症作用は、以下に示す実験例などにより確認することができる。

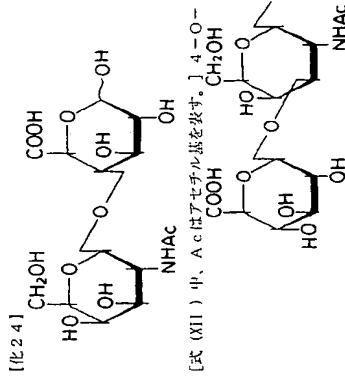
【0048】本発明の第2態様のヒアルロニダーゼ阻害剤および第3態様のアレルギー性疾患治療および抗炎症剤は、本発明の第1態様のオリゴ糖を、一般的に用いられる適当な塩または溶媒の類、例えば必要に応じて滅菌水や植物油、更には生理学的に許容し得る溶媒や緩解補助剤 (例えばアルコール、グリセリン、プロピレ

グリコール)などを用い、賦形剤、結合剤、調剤、着色剤、香味剤、懸濁化剤または乳化剤(例えばポリソルベート80やアラビアゴムなど)、等を適宜選択組み合わせる。こうして得られた剤形として、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、坐剤、シロップ剤、吸入剤、軟膏剤、懸濁剤、懸濁剤、点眼用液剤、水性若しくは非水性の注射剤、乳濁性若しくは懸濁性の注射剤、即時溶解または懸濁して用いる注射剤などから選ばれる。

[0049]また、本発明の第2態様のヒアルロニダーゼ阻害剤および第3態様のアレルギー性疾患治療剤および抗炎症剤は、経口または非経口(例えば筋内投与、筋肉内投与、皮下投与、直腸内投与、経皮吸収または経粘膜吸収等)を問わず患者に投与される。成人における一日投与量は、前記オリゴ糖に換算して0.1mg~500.0mg、好ましくは、0.5mg~100.0mg、さらには好ましくは5~500mgであるが、患者の体重、症状あるいは投与経路に応じて適宜増減することができ、また全量を1回ないし2~6回に分けて投与することや点滴静注なども可能である。

[0050]以下に本発明の代表化合物のいくつかを例示し、第2態様に記載のヒアルロニダーゼ阻害作用および第3態様に記載の抗アレルギー性作用および抗炎症作用を本発明1~5によって示す。実施例1、2、3、7、8、9で合成され、実施例1~5で用いられる化合物名および式と、比較化合物を列挙する。

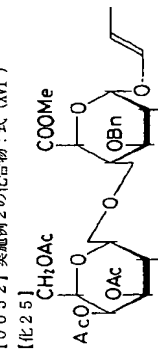
[0051]実施例1の化合物:式(XI)



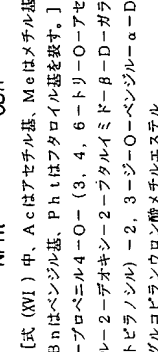
[式(XIII)] 中、Acはアセチル基を表す。[O-β-D-グルコピラノシド-β-D-ガラクトピラノシド-β-D-アセチル-2-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシド]の化合物:式(XIV)

(2-アセチル-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシド-β-D-グルコピラノシド)の化合物:式(XV)

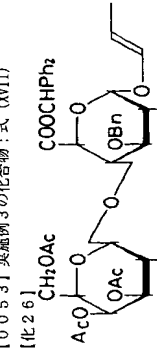
[化25]



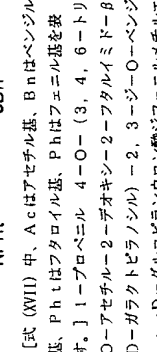
[化26]



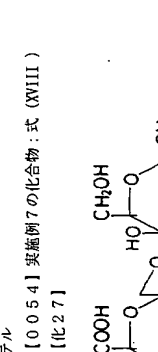
[化27]



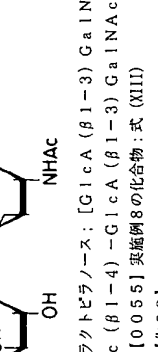
[化28]



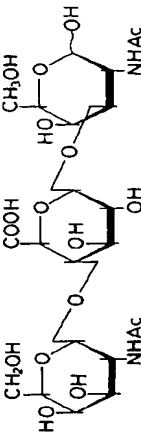
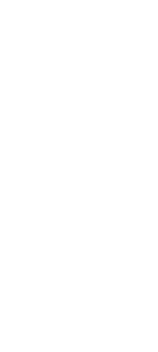
[化29]



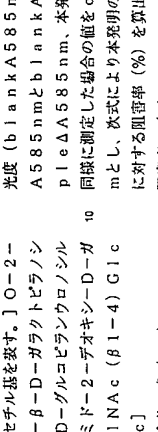
[化30]



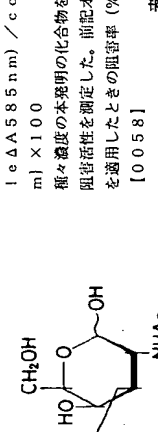
[化31]



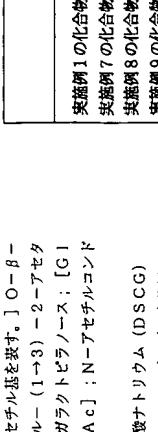
[化32]



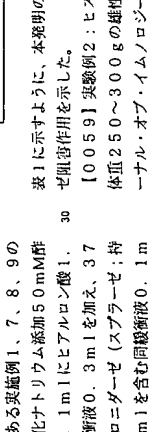
[化33]



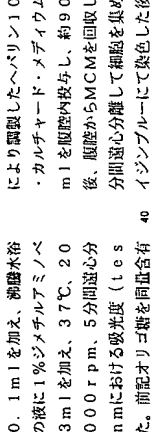
[化34]



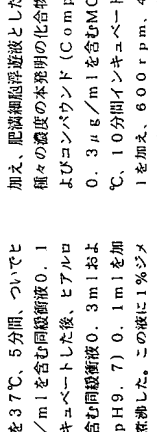
[化35]



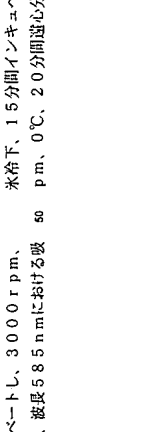
[化36]



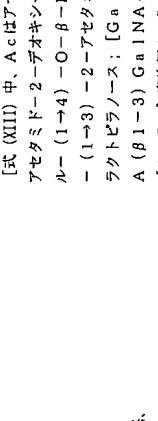
[化37]



[化38]



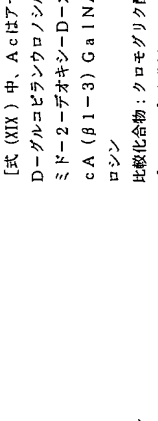
[化39]



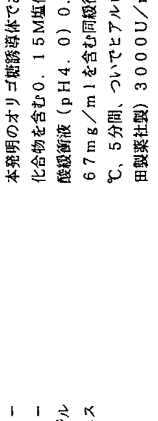
[化40]



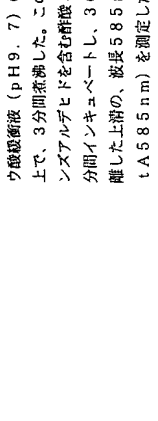
[化41]



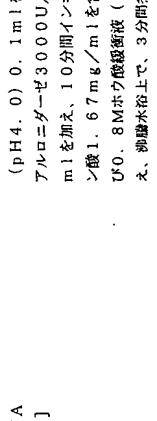
[化42]



[化43]



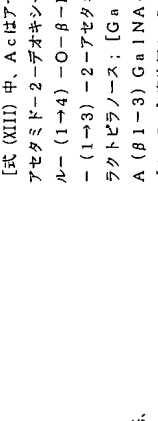
[化44]



[化45]



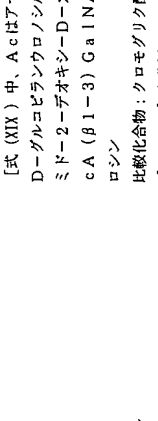
[化46]



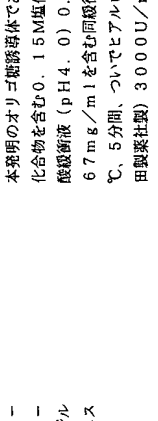
[化47]



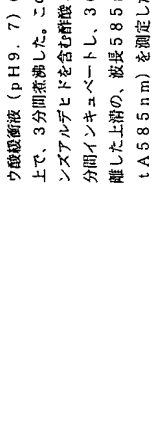
[化48]



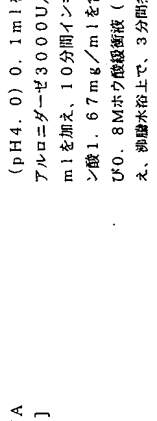
[化49]



[化50]



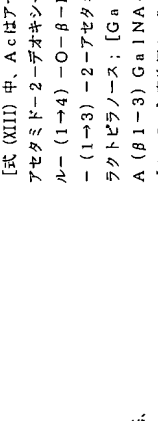
[化51]



[化52]



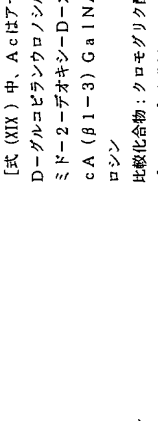
[化53]



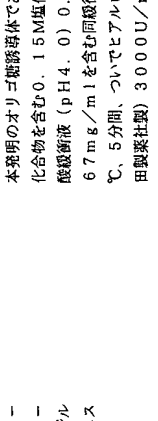
[化54]



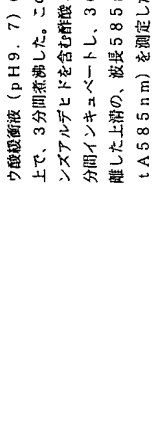
[化55]



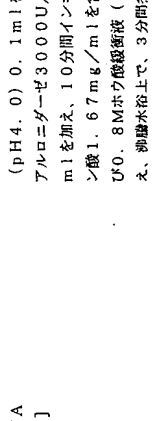
[化56]



[化57]



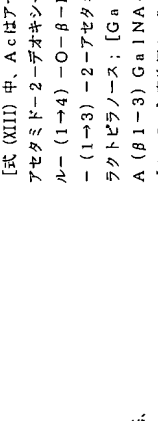
[化58]



[化59]



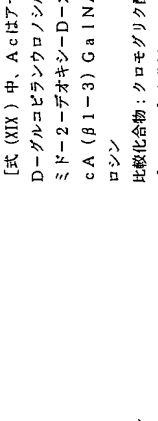
[化60]



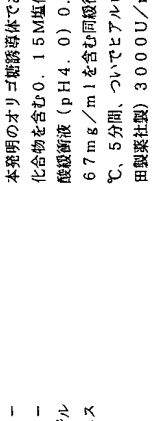
[化61]



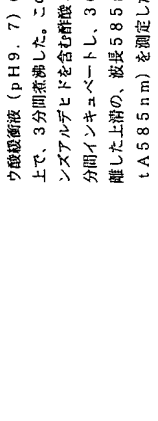
[化62]



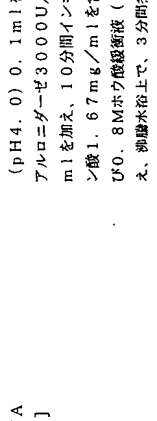
[化63]



[化64]



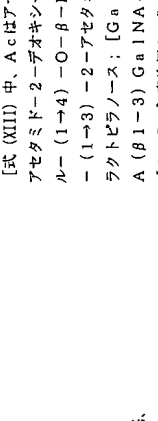
[化65]



[化66]



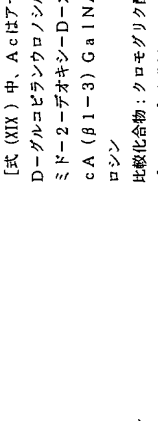
[化67]



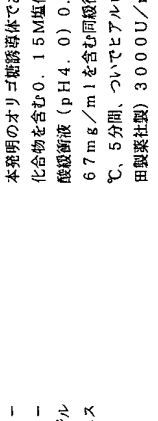
[化68]



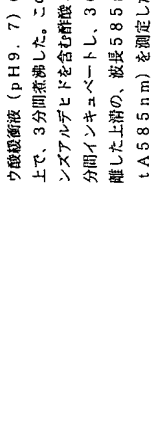
[化69]



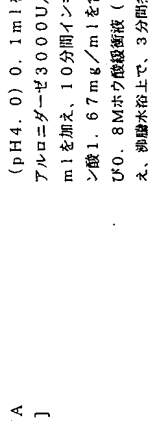
[化70]



[化71]



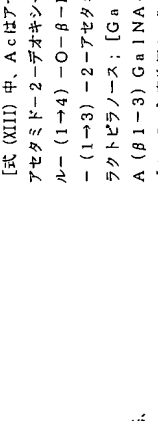
[化72]



[化73]



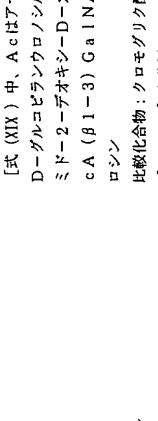
[化74]



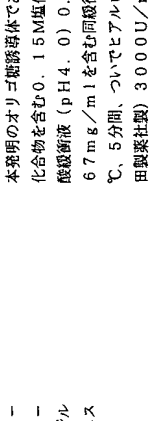
[化75]



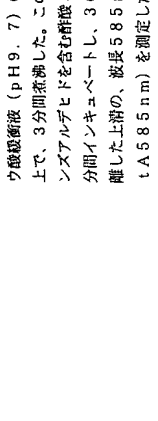
[化76]



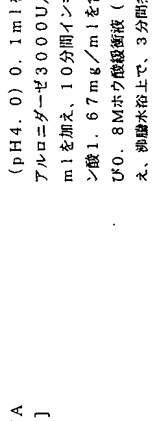
[化77]



[化78]



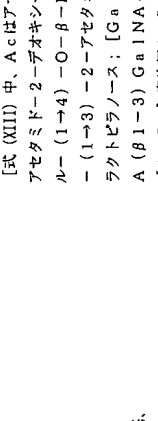
[化79]



[化80]



[化81]



[化82]



浴2 mlに塩化ナトリウム3 gを加え、6 M水酸化ナトリウムにてpHを13.0に調整した後、n-ブタノール：クロロホルム=3：2の溶液3.5 mlを加え、15分間振盪した。3000 rpm、5分間遠心分離し、上層を採取した。上層3 mlにn-ブタノール3 mlおよび0.1 M塩酸1.5 mlを加え、15分間振盪し、3000 rpm、5分間遠心分離した後、下層を採取した。下層1 mlを1 M水酸化ナトリウムにてpHを12.6に調整し、0.2%オルトフタルアルデヒドを含むメタノール0.1 mlを加えて、0℃、40分間インキュベートした後、0.25 M塩酸にてpHを3.0に調整した。ついで、励起波長360 nm、測定波長400 nmの蛍光強度を測定した後、ヒスタミン10-270 ng/mlを含む塩化ナトリウム溶液(pH12.6)のオ

表 2

	IC50 (μg/ml)
実施例7の化合物	70.2
実施例8の化合物	73.3
実施例9の化合物	80.2
DSCG	696.6

表2に示すように、本発明の化合物は、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用を示した。本発明の化合物のヒスタミン遊離抑制作用は、いずれもDSCGよりも強力であった。

【0061】実施例3：気道収縮抑制作用（ラット）
体重200～250 g雄性ウイスター系ラットに抗オポアルブミン（以下OAと略す）マウス血清5.0 ml/kgを静脈内投与し、1日後、ペンタバルビタールナトリウム麻酔下は、気管にカニキュレを挿入した。気管カニキュレに小動物用人工呼吸器（SN480-7、シナ

表 3

	投与量 (mg/kg)	抑制率 (%)
実施例1の化合物	30	64
実施例7の化合物	10	38
実施例8の化合物	10	38
実施例9の化合物	30	92
DSCG	1	72

表3に示すように、本発明の化合物は、ラットにおいて気道収縮抑制作用を示した。

【0063】実施例4：気道収縮抑制作用（モルモット）
体重250～350 gの雄性ハートレー系モルモットに抗OAモルモット血清1 ml/kgを腹腔内投与し、1日後ウレタン麻酔下に気管にカニキュレを挿入した。気

ルトフタルアルデヒド反応液の蛍光強度より、作成した標準曲線により、ヒスタミン含量を算出した。種々の濃度の本発明の実施例7、8、9の化合物を含むMCMを用いて算出したヒスタミン含量を[Test]、本発明の化合物を添加しない対照に測定した場合の値を[Control]とし、次式によりヒスタミン遊離抑制率を算出した。

ヒスタミン遊離抑制率 (%) = $100 \times \frac{[Control] - [Test]}{[Control]}$
10
ヒスタミン遊離抑制率を線図に、本発明の化合物の濃度に対する50%抑制濃度を算出し、IC50値とした。結果を表2に示した。

表 2

【0060】

【0061】

【0062】

【0063】

【0064】

【0065】

【0066】

【0067】

【0068】

【0069】

【0070】

【0071】

【0072】

【0073】

【0074】

【0075】

【0076】

【0077】

【0078】

【0079】

【0080】

【0081】

【0082】

【0083】

【0084】

【0085】

【0086】

【0087】

【0088】

【0089】

【0090】

【0091】

【0092】

【0093】

【0094】

【0095】

【0096】

【0097】

【0098】

【0099】

【0100】

【0101】

【0102】

【0103】

【0104】

【0105】

【0106】

【0107】

【0108】

【0109】

【0110】

【0111】

【0112】

【0113】

【0114】

【0115】

【0116】

【0117】

【0118】

【0119】

逆収縮反応を惹起させ、側路よりのエアロ・オーパーロー量をトランスジェネレーターを介して記録した。測定終了後に気管を閉塞し、これを最大反応として被験薬による反応の百分率を求めた。なお、本発明の化合物は5%

表 4

	投与量 (mg/kg)	抑制率 (%)
実施例2の化合物	100	30
実施例3の化合物	100	26

表4に示すように、本発明の化合物は、モルモットにおいて気道収縮抑制作用を示した。

【0065】実施例5：マウス運動誘発アナフィラキシー（以下PCAと略す）反応抑制作用
体重20～40 gの雄性d d y系マウスの背筋皮下に抗OAマウス血清50 μlを投与し、2時間後にOA0.5 mgを含む0.5%エバンズブルー溶液0.5 mlを静脈内投与した。30分後にマウスを屠殺し、抗体投与部位に生じる色素沈着部位の直径が5 mm以上のものをPCA反応陽性として判定した。なお、本発明の化合物は5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、OA投与の1時間前に経口投与した。本発明の実施例2の化合物および実施例3の化合物に、PCA反応抑制作用が認められた。

【0066】以上の実施例1～5から明らかなように、本発明の化合物は、ヒアルロニダーゼ阻害作用、ラット肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用、ラットおよびモルモットアナフィラキシー気道収縮抑制作用、マウスPCA反応抑制作用を示し、安全性も高い。従って、本発明の化合物は、慢性関節リウマチ、変形性関節症、痛症、気管支喘息、結核炎、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、過敏症、中耳炎、アレルギー性胃腸炎、食物アレルギーおよび薬物アレルギーなどの各種炎症性疾患およびアレルギー性疾患の治療に極めて有用である。なお、本発明の化合物は、動物実験において、最大100 mg/kgまで投与しても、死亡例および顕著な異常所見は認められなかった。従って、本発明の化合物は、安全性の高い、強力なヒアルロニダーゼ阻害剤、ひいては強力な抗アレルギー剤、抗炎症剤を提供するものである。

【0067】
【実施例】以下に本発明の抗炎症・抗アレルギー作用を有するオリゴ糖誘導体のオリゴ糖の製造方法を実施例によるものではない。各例について、必要に応じて¹H-NMRスペクトル(δ値, ppm)、¹³C-NMRスペクトル(δ値, ppm)、MASSスペクトル、IRスペクトルデータ(KB・吸収法)などを記載した。なお、NMRスペクトルデータは、特記しない限り、CD Cl₃中、TMSを内部標準物質として測定した数値を

【0068】
【0069】
【0070】
【0071】
【0072】
【0073】
【0074】
【0075】
【0076】
【0077】
【0078】
【0079】
【0080】
【0081】
【0082】
【0083】
【0084】
【0085】
【0086】
【0087】
【0088】
【0089】
【0090】
【0091】
【0092】
【0093】
【0094】
【0095】
【0096】
【0097】
【0098】
【0099】
【0100】
【0101】
【0102】
【0103】
【0104】
【0105】
【0106】
【0107】
【0108】
【0109】
【0110】
【0111】
【0112】
【0113】
【0114】
【0115】
【0116】
【0117】
【0118】
【0119】
【0120】
【0121】
【0122】
【0123】
【0124】
【0125】
【0126】
【0127】
【0128】
【0129】
【0130】
【0131】
【0132】
【0133】
【0134】
【0135】
【0136】
【0137】
【0138】
【0139】
【0140】
【0141】
【0142】
【0143】
【0144】
【0145】
【0146】
【0147】
【0148】
【0149】
【0150】
【0151】
【0152】
【0153】
【0154】
【0155】
【0156】
【0157】
【0158】
【0159】
【0160】
【0161】
【0162】
【0163】
【0164】
【0165】
【0166】
【0167】
【0168】
【0169】
【0170】
【0171】
【0172】
【0173】
【0174】
【0175】
【0176】
【0177】
【0178】
【0179】
【0180】
【0181】
【0182】
【0183】
【0184】
【0185】
【0186】
【0187】
【0188】
【0189】
【0190】
【0191】
【0192】
【0193】
【0194】
【0195】
【0196】
【0197】
【0198】
【0199】
【0200】
【0201】
【0202】
【0203】
【0204】
【0205】
【0206】
【0207】
【0208】
【0209】
【0210】
【0211】
【0212】
【0213】
【0214】
【0215】
【0216】
【0217】
【0218】
【0219】
【0220】
【0221】
【0222】
【0223】
【0224】
【0225】
【0226】
【0227】
【0228】
【0229】
【0230】
【0231】
【0232】
【0233】
【0234】
【0235】
【0236】
【0237】
【0238】
【0239】
【0240】
【0241】
【0242】
【0243】
【0244】
【0245】
【0246】
【0247】
【0248】
【0249】
【0250】
【0251】
【0252】
【0253】
【0254】
【0255】
【0256】
【0257】
【0258】
【0259】
【0260】
【0261】
【0262】
【0263】
【0264】
【0265】
【0266】
【0267】
【0268】
【0269】
【0270】
【0271】
【0272】
【0273】
【0274】
【0275】
【0276】
【0277】
【0278】
【0279】
【0280】
【0281】
【0282】
【0283】
【0284】
【0285】
【0286】
【0287】
【0288】
【0289】
【0290】
【0291】
【0292】
【0293】
【0294】
【0295】
【0296】
【0297】
【0298】
【0299】
【0300】
【0301】
【0302】
【0303】
【0304】
【0305】
【0306】
【0307】
【0308】
【0309】
【0310】
【0311】
【0312】
【0313】
【0314】
【0315】
【0316】
【0317】
【0318】
【0319】
【0320】
【0321】
【0322】
【0323】
【0324】
【0325】
【0326】
【0327】
【0328】
【0329】
【0330】
【0331】
【0332】
【0333】
【0334】
【0335】
【0336】
【0337】
【0338】
【0339】
【0340】
【0341】
【0342】
【0343】
【0344】
【0345】
【0346】
【0347】
【0348】
【0349】
【0350】
【0351】
【0352】
【0353】
【0354】
【0355】
【0356】
【0357】
【0358】
【0359】
【0360】
【0361】
【0362】
【0363】
【0364】
【0365】
【0366】
【0367】
【0368】
【0369】
【0370】
【0371】
【0372】
【0373】
【0374】
【0375】
【0376】
【0377】
【0378】
【0379】
【0380】
【0381】
【0382】
【0383】
【0384】
【0385】
【0386】
【0387】
【0388】
【0389】
【0390】
【0391】
【0392】
【0393】
【0394】
【0395】
【0396】
【0397】
【0398】
【0399】
【0400】
【0401】
【0402】
【0403】
【0404】
【0405】
【0406】
【0407】
【0408】
【0409】
【0410】
【0411】
【0412】
【0413】
【0414】
【0415】
【0416】
【0417】
【0418】
【0419】
【0420】
【0421】
【0422】
【0423】
【0424】
【0425】
【0426】
【0427】
【0428】
【0429】
【0430】
【0431】
【0432】
【0433】
【0434】
【0435】
【0436】
【0437】
【0438】
【0439】
【0440】
【0441】
【0442】
【0443】
【0444】
【0445】
【0446】
【0447】
【0448】
【0449】
【0450】
【0451】
【0452】
【0453】
【0454】
【0455】
【0456】
【0457】
【0458】
【0459】
【0460】
【0461】
【0462】
【0463】
【0464】
【0465】
【0466】
【0467】
【0468】
【0469】
【0470】
【0471】
【0472】
【0473】
【0474】
【0475】
【0476】
【0477】
【0478】
【0479】
【0480】
【0481】
【0482】
【0483】
【0484】
【0485】
【0486】
【0487】
【0488】
【0489】
【0490】
【0491】
【0492】
【0493】
【0494】
【0495】
【0496】
【0497】
【0498】
【0499】
【0500】
【0501】
【0502】
【0503】
【0504】
【0505】
【0506】
【0507】
【0508】
【0509】
【0510】
【0511】
【0512】
【0513】
【0514】
【0515】
【0516】
【0517】
【0518】
【0519】
【0520】
【0521】
【0522】
【0523】
【0524】
【0525】
【0526】
【0527】
【0528】
【0529】
【0530】
【0531】
【0532】
【0533】
【0534】
【0535】
【0536】
【0537】
【0538】
【0539】
【0540】
【0541】
【0542】
【0543】
【0544】
【0545】
【0546】
【0547】
【0548】
【0549】
【0550】
【0551】
【0552】
【0553】
【0554】
【0555】
【0556】
【0557】
【0558】
【0559】
【0560】
【0561】
【0562】
【0563】
【0564】
【0565】
【0566】
【0567】
【0568】
【0569】
【0570】
【0571】
【0572】
【0573】
【0574】
【0575】
【0576】
【0577】
【0578】
【0579】
【0580】
【0581】
【0582】
【0583】
【0584】
【0585】
【0586】
【0587】
【0588】
【0589】
【0590】
【0591】
【0592】
【0593】
【0594】
【0595】
【0596】
【0597】
【0598】
【0599】
【0600】
【0601】
【0602】
【0603】
【0604】
【0605】
【0606】
【0607】
【0608】
【0609】
【0610】
【0611】
【0612】
【0613】
【0614】
【0615】
【0616】
【0617】
【0618】
【0619】
【0620】
【0621】
【0622】
【0623】
【0624】
【0625】
【0626】
【0627】
【0628】
【0629】
【0630】
【0631】
【0632】
【0633】
【0634】
【0635】
【0636】
【0637】
【0638】
【0639】
【0640】
【0641】
【0642】
【0643】
【0644】
【0645】
【0646】
【0647】
【0648】
【0649】
【0650】
【0651】
【0652】
【0653】
【0654】
【0655】
【0656】
【0657】
【0658】
【0659】
【0660】
【0661】
【0662】
【0663】
【0664】
【0665】
【0666】
【0667】
【0668】
【0669】
【0670】
【0671】
【0672】
【0673】
【0674】
【0675】
【0676】
【0677】
【0678】
【0679】
【0680】
【0681】
【0682】
【0683】
【0684】
【0685】
【0686】
【0687】
【0688】
【0689】
【0690】
【0691】
【0692】
【0693】
【0694】
【0695】
【0696】
【0697】
【0698】
【0699】
【0700】
【0701】
【0702】
【0703】
【0704】
【0705】
【0706】
【0707】
【0708】
【0709】
【0710】
【0711】
【0712】
【0713】
【0714】
【0715】
【0716】
【0717】
【0718】
【0719】
【0720】
【0721】
【0722】
【0723】
【0724】
【0725】
【0726】
【0727】
【0728】
【0729】
【0730】
【0731】
【0732】
【0733】
【0734】
【0735】
【0736】
【0737】
【0738】
【0739】
【0740】
【0741】
【0742】
【0743】
【0744】
【0745】
【0746】
【0747】
【0748】
【0749】
【0750】
【0751】
【0752】
【0753】
【0754】
【0755】
【0756】
【0757】
【0758】
【0759】
【0760】
【0761】
【0762】
【0763】
【0764】
【0765】
【0766】
【0767】
【0768】
【0769】
【0770】
【0771】
【0772】
【0773】
【0774】
【0775】
【0776】
【0777】
【0778】
【0779】
【0780】
【0781】
【0782】
【0783】
【0784】
【0785】
【0786】
【0787】
【0788】
【0789】
【0790】
【0791】
【0792】
【0793】
【0794】
【0795】
【0796】
【0797】
【0798】
【0799】
【0800】
【0801】
【0802】
【0803】
【0804】
【0805】
【0806】
【0807】
【0808】
【0809】
【0810】
【0811】
【0812】
【0813】
【0814】
【0815】
【0816】
【0817】
【0818】
【0819】
【0820】
【0821】
【0822】
【0823】
【0824】
【0825】
【0826】
【0827】
【0828】
【0829】
【0830】
【0831】
【0832】
【0833】
【0834】
【0835】
【0836】
【0837】
【0838】
【0839】
【0840】
【0841】
【0842】
【0843】
【0844】
【0845】
【0846】
【0847】
【0848】
【0849】
【0850】
【0851】
【0852】
【0853】<

状のパラトキシベンジルプロミドを得た。工程3で得た化合物20 gをトルエン580 mlに懸濁し、酸化ピス〔トリ-n-ブチルサズ(IV)〕15.3 gを加え、2時間還流した。その間、ディーンスターク管で水を除きながら約300 mlのトルエンを留去した。反応液の温度を80℃に放冷し、上記還流したパラトキシベンジルプロミドおよび臭化テトラ-n-ブチルアンモニウム10 gを加え、アルゴン雰囲気下で80℃で3時間攪拌した。放冷後、クロホルム2 lで希釈した後、10%硫酸水素カリウム水溶液、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶液を減圧留去し、得られた油状の残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(エーテル-ヘキサン)で精製し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド13.5 gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.36-7.19 (17H), 6.85 (d, 2H), 5.08-4.45 (9H), 3.79 (s, 3H), 3.77-3.46 (6H), 2.46 (d, 1H)

【0072】工程5

工程4で得られた化合物7.1 gを無水1,2-ジクロロエタン45 mlに溶解し、モレキュラーシーブ4 A 6.2 gおよび2,4,6-トリニトロベンゼン1.68 mlを加え、室温で1.5時間攪拌した。反応液を減圧留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(エーテル-ヘキサン)で精製し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド13.5 gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.36-7.19 (17H), 6.85 (d, 2H), 5.08-4.45 (9H), 3.79 (s, 3H), 3.77-3.46 (6H), 2.46 (d, 1H)

【0072】工程5

工程4で得られた化合物7.1 gを無水1,2-ジクロロエタン45 mlに溶解し、モレキュラーシーブ4 A 6.2 gおよび2,4,6-トリニトロベンゼン1.68 mlを加え、室温で1.5時間攪拌した。反応液を減圧留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(エーテル-ヘキサン)で精製し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド13.5 gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.9-7.6 (4H), 7.4-2-7.13 (17H), 6.85 (d, 2H), 5.75-3.3 (22H), 3.81 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.81 (s, 3H) Mass (M+1) : 988

【0073】工程6

工程5で得られた化合物14 gを無水メタノール1.2 lに溶解し、アルゴン雰囲気下、氷冷し、0-2℃とし、1Mナトリウムメトキシ/メタノール溶液12.8 mlを添加した。反応液を4℃で1時間攪拌後、反応液をダウケックス50 Wで中和し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.9-7.6 (4H), 7.4-2-7.13 (17H), 6.85 (d, 2H), 5.75-3.3 (22H), 3.81 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.81 (s, 3H) Mass (M+1) : 988

【0073】工程6

工程5で得られた化合物14 gを無水メタノール1.2 lに溶解し、アルゴン雰囲気下、氷冷し、0-2℃とし、1Mナトリウムメトキシ/メタノール溶液12.8 mlを添加した。反応液を4℃で1時間攪拌後、反応液をダウケックス50 Wで中和し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.9-7.6 (4H), 7.4-2-7.13 (17H), 6.85 (d, 2H), 5.75-3.3 (22H), 3.81 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.81 (s, 3H) Mass (M+1) : 988

【0073】工程6

工程5で得られた化合物14 gを無水メタノール1.2 lに溶解し、アルゴン雰囲気下、氷冷し、0-2℃とし、1Mナトリウムメトキシ/メタノール溶液12.8 mlを添加した。反応液を4℃で1時間攪拌後、反応液をダウケックス50 Wで中和し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

1時間攪拌後、室温で2.5時間攪拌した。反応液に水50 mlを加え、クロホルムを抽出した。クロホルム層を合わせ、残渣が中性になるまで水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶液を減圧留去し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.51-7.14 (15H), 6.4-3.4 (19H), 2.17-1.94 (12H)

【0077】工程10

工程9で得られた化合物3.7 gをジメチルホルムアミド6 mlに溶解し、クロロメチルメチルエーテル0.35 ml、トリエチルアミン0.64 mlを加え、室温で1時間攪拌した。さらに、クロロメチルメチルエーテル0.17 ml、トリエチルアミン0.32 mlを加え、室温で30分間攪拌した。反応液に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。ジクロロメタン層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶液を減圧留去し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-4-O-(2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシド)9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.4-7.2 (15H), 5.95 (d, 1H), 5.5-3.7 (20H), 3.5 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.97 (6H), 1.93 (s, 3H)

【0078】工程11

工程10で得られた化合物4 gをメタノール270 mlに溶解し、10%パラジウム-炭素3.7 gを加えた。水素ガスを吹き込みながら、室温で3時間攪拌した後、38℃で5時間攪拌した。さらに、水素ガス雰囲気下で室温で終夜攪拌した。反応液からパラジウム-炭素を除去後、溶液を減圧留去した。残渣を減圧乾燥し、4-O-(2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシド)-D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 5.5-3.0 (18H), 3.49 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.89 (s, 3H) Mass (M+1) : 780

【0079】工程12

工程11で得られた化合物1.9 gをピリジン20 mlに溶解し、無水酢酸14 mlを加え、室温で16時間攪拌した。溶液を減圧留去し、残渣をジクロロメタンに

溶解し、10%硫酸水素カリウム溶液で2回、水で1回洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下溶液を留去し、アセチル2,3-ジ-O-アセチル-4-O-(2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシド)-D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 6.32 (d, 1H), 5.8-3.8 (14H), 3.56 (s, 3H), 2.17-1.94 (21H)

【0080】工程13

工程12で得られた化合物0.4 gをメタノール40 mlに溶解し、1M塩酸を8滴加えた後40℃で6.5時間攪拌した。溶液を減圧留去し、アセチル2,3-ジ-O-アセチル-4-O-(2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシド)-D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 5.35 (1H), 4.2-3.1 (12H), 2.2-1.9 (21H)

【0081】工程14

工程13で得られた化合物0.28 gを無水メタノール28 mlに溶解し、1Mナトリウムメトキシ/メタノール溶液0.39 mlを氷冷下加えた。さらに1Mナトリウムメトキシ/メタノール溶液0.39 mlを加え、5-10℃で2.5時間攪拌した。反応液をダウケックス50 Wで中和した後、ダウケックス50 Wを減圧し、減圧下乾燥を留去した。残渣をバイオグルP-2を用いたカラムクロマトグラフィーにより精製し、本発明のオリゴ糖である炭化化合物4-O-(2-アセタミド-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシド)-D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

NMR (δ ppm) : 5.23-3.1 (19H), 1.97 (s, 3H)

¹³C NMR (D₂O; δ ppm) : 177.4, 104.0, 98.7, 94.7, 82.5, 63.5, 49.2, 24.9

Mass (M⁺-1) : 396

IR (cm⁻¹) : 3350, 2900, 1740, 1630, 1370, 1040

【0082】実施例2

1-プロペニル2,3-ジ-O-ベンジル-4-O-(3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシド)- α -D-グルコピラノシド9.2 gを得た。

【0083】工程2

実施例1工程1と同様にして、3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシド9.2 gを減圧留去し、残渣をジクロロメタンに

【0083】工程2

特開昭59-10599号公報に記載の方法に従って、1-プロベニル2, 3-ジオ- α -ベンジル- α -D-グルコピラノシドクロン酸メチルエステルを合成した。

[0084] 工程3

工程1で得られた化合物3, 0.7g、工程2で得られた化合物2, 4g、銀トリフラート1, 59g、2, 3, 6- α -コリジノ0, 76ml、モレキュラーシーブ4A 2, 8gを無水1, 2-ジクロロエタン35mlに懸濁し、実施例1工程5と同様の方法により、本発明のオリゴ糖である表題化合物1, 7gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.91-7.66 (4H), 7.40-7.15 (10H), 5.94-3.82 (18H), 3.57 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.80 (s, 3H), 1.52 (d, 3H)

[0085] 実施例3:

1-プロベニル2, 3-ジオ- α -ベンジル-4-O-(3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルタリミド- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシドクロン酸ジフェニルメチルエステルの製造

工程1

実施例1工程1と同様にして、3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルタリミド- α -D-ガラクトピラノシルプロミドを合成した。

[0086] 工程2

特開昭59-10599号公報に記載の方法に従って、アリル4-O-アセチル-2, 3-ジオ- α -ベンジル- α -D-グルコピラノシドクロン酸を合成した。

[0087] 工程3

工程2で得られた化合物4, 6gをジエチルエーテル150mlに溶解し、室温で攪拌しながら、原料が消失するまでジフェニルアゾメタンを加えた。シリカゲルを加え、2〜3分攪拌し、過剰のジフェニルアゾメタンを分解した後、シリカゲルを除去した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー

(ヘキサン-ジエチルエーテル)で精製し、アリル4-O-アセチル-2, 3-ジオ- α -ベンジル- α -D-グルコピラノシドクロン酸ジフェニルメチルエステル3, 8.4gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.35-7.2 (20H), 6.2-5.7 (1H), 5.4-3.5 (14H), 1.47 (s, 3H)

[0088] 工程4

実施例1工程8と同様にして、ベンジル2, 3-ジオ- α -ベンジル-4-O-(2-アセチルミド-3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシド8gを合成し、

[0093] 工程3

工程3で得られた化合物36, 9gをエタノール830ml、ベンゼン355mlおよび水118mlの混合物に溶解し、1, 4-ジアザベンジクロ [2, 2, 2] オクタ-1, 18gを加え、還流した。還流下で塩化トリフェニルホスフィンジウム (1) 3, 82gを加え、4時間還流した。反応終了後、不溶物を濾去し、溶媒を減圧留去した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン-ジエチルエーテル) で精製し、1-プロベニル4-O-アセチル-2, 3-ジオ- α -ベンジル- α -D-グルコピラノシドクロン酸ジフェニルメチルエステル30, 2gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.3-7.15 (20H), 6.0 (1H), 5.3-3.5 (11H), 1.6 (d, 3H), 1.5 (d, 3H)

[0089] 工程5

工程4で得られた化合物29, 6gをメタノール320mlに溶解し、室温攪拌下、2Mナトリウムメキンド-メタノール溶液12, 8mlを加え、室温で1時間攪拌した。ダウエクセス50Wを約30ml加え、室温で10分間攪拌し、反応を停止させた。ダウエクセス50Wを濾去後、濾液を減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン-ジエチルエーテル) で精製し、1-プロベニル2, 3-ジオ- α -ベンジル- α -D-グルコピラノシドクロン酸ジフェニルメチルエステル11, 4gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.4-7.2 (20H), 6.2-6.0 (1H), 5.45-3.1 (11H), 1.65 (d, 3H)

[0090] 工程6

工程1で得られた化合物、工程5で得られた化合物を用い、実施例1工程5と同様の方法で、本発明のオリゴ糖である表題化合物0, 9gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.9-7.7 (4H), 7.4-7.2 (20H), 6.0-3.5 (19H), 2.11 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.81 (s, 3H), 1.5 (d, 3H)

[0091] 実施例4:

ベンジル2, 3-ジオ- α -ベンジル-4-O-(3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルタリミド- β -D-ガラクトピラノシル)-D-グルコピラノシドクロン酸ベンジルエステルの製造

工程1

実施例1工程1と同様にして、3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルタリミド- α -D-ガラクトピラノシルプロミドを合成した。

[0092] 工程2

実施例1工程2および工程3と同様にして、ベンジル2, 3-ジオ- α -ベンジル-D-グルコピラノシドを合成した。

[0093] 工程3

工程2で得られた化合物4, 2gを無水ピリジン200mlに溶解し、室温で攪拌しながらトリチルクロライド2, 9.9gを加えた。100°Cで2時間攪拌後、室温で冷却し、無水酢酸15.8mlを加え、室温で終夜攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣にクロホルム50mlを加え、10%硫酸メタノール、水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、油状のベンジル4-O-アセチル-2, 3-ジオ- α -ベンジル-6-O-トリチル-D-グルコピラノシド83gを得た。

[0094] 工程4

工程3で得られた化合物68, 5gをクロホルム500mlに溶解し、氷浴で0°Cに冷却した。三フッ化ホウ素-メタノール錯体の20%メタノール溶液94mlを30分かけて滴加し、0〜10°Cで5時間攪拌した。反応液を水に注ぎ、有機層を分離した。有機層を水で2回、飽和硫酸水素ナトリウム水溶液で1回、さらに洗液中性になるまで水で洗浄し、続いて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (ジクロロメタン-ヘキサン) で精製し、ベンジル4-O-アセチル-2, 3-ジオ- α -ベンジル-D-グルコピラノシド37gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.4-7.2 (15H), 5.0-4.5 (9H), 3.7-3.5 (4H), 1.95 (s, 3H)

[0095] 工程5

工程4で得られた化合物37gをアセトン600mlに溶解し、塩化ナトリウム-氷浴で-5°Cまで冷却した。攪拌下、三酸化クロム21gを3, 5M硫酸94mlに溶解した溶液を滴加した。滴加終了後、反応液を室温に戻し、室温で3時間攪拌した。反応液に水500mlを加え、クロホルム500mlで3回抽出した。クロホルム層を合わせ、洗液が中性を示すまで洗浄し、鋭い飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、ベンジル4-O-アセチル-2, 3-ジオ- α -ベンジル-D-グルコピラノシドクロン酸40gを得た。

[0096] 工程6

工程5で得られた化合物20gをジエチルエーテル200mlに溶解し、フェニルアゾメタン溶液を加えた。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン-ジエチルエーテル) で精製し、ベンジル4-O-アセチル-2, 3-ジオ- α -ベンジル-D-グルコピラノシドクロン酸ベンジルエステル1, 2gを得た。

[0097] 工程7

工程6で得られた化合物11, 2gをメタノール130mlに溶解し、1Mナトリウムメキンド-メタノール溶液13, 7mlを加えた。室温で1, 5時間攪拌した

後、ダウエクセス50Wを加え中和した。ダウエクセス50Wを濾去し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン-ジエチルエーテル) で精製し、ベンジル2, 3-ジオ- α -ベンジル-D-グルコピラノシドクロン酸ベンジルエステル2, 0gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.35-7.2 (20H), 5.3-2.8 (14H)

[0098] 工程8

工程1で得られた化合物3, 8g、工程7で得られた化合物3, 8g、銀トリフラート1, 94g、2, 3, 6- α -コリジノ0, 93ml、モレキュラーシーブ4A 3, 4gを、無水1, 2-ジクロロエタン45mlに懸濁し、実施例1工程5と同様の方法により本発明のオリゴ糖である表題化合物1, 1gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.8-7.7 (4H), 7.4-7.1 (20H), 5.8-3.5 (20H), 2.1 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.8 (s, 3H)

[0099] 実施例5:

ベンジル2, 3-ジオ- α -ベンジル-4-O-(2-デオキシ-2-フルタリミド- β -D-ガラクトピラノシル)-D-グルコピラノシドクロン酸ベンジルエステルの製造

実施例4で得られたベンジル2, 3-ジオ- α -ベンジル-4-O-(3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルタリミド- β -D-ガラクトピラノシル)-D-グルコピラノシドクロン酸ベンジルエステル1, 0gを無水メタノール430mlに溶解し、食塩-米浴を用いて0°Cまで冷却後、1Mナトリウムメキンド-メタノール溶液1, 3mlを加え、5時間攪拌した。ダウエクセス50Wを加えて中和後、ダウエクセス50Wを濾去し、濾液を減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (ジクロロメタン-ジエチルエーテル) で精製し、本発明のオリゴ糖である表題化合物0, 9gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.8-7.7 (4H), 7.4-7.2 (20H), 5.0-3.4 (20H)

[0100] 実施例6:

O-(2-アセチルミド-3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシド (2, 3-ジオ- α -アセチル- β -D-グルコピラノシド)- α -D-グルコピラノシド-2-アセチル- β -D-グルコピラノシドの製造

工程1

実施例1工程8と同様にして、ベンジル2, 3-ジオ- α -ベンジル-4-O-(2-アセチルミド-3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシド8gを合成し、

[0100] 実施例6:

O-(2-アセチルミド-3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシド (2, 3-ジオ- α -アセチル- β -D-グルコピラノシド)- α -D-グルコピラノシドの製造

ラウリル硫酸ナトリウム、コーンスターチおよび乳糖を加え配合後のまま希釈する。固化した配合物を粉砕器にかけて造粒する。本顆粒をステアリン酸マグネシウムと混合後圧縮打錠して重量250mgの錠剤とする。

【0112】実施例B：錠剤
実施例8の化合物 30g
乳糖 55g
ポテト澱粉 12g
ポリビニルアルコール 1.5g
ステアリン酸マグネシウム 1.5g
上記成分を秤量した後、実施例8の化合物、乳糖、ポテト澱粉を均一に混合する。この混合物にポリビニルアルコールの水溶液を加え、湯式顆粒造粒法により顆粒を調製する。この顆粒を乾燥し、ステアリン酸マグネシウムを混合した後圧縮打錠して重量200mgの錠剤とする。

【0113】実施例C：カプセル剤
実施例1の化合物 10g
乳糖 25g
微結晶セルロース 5g
ステアリン酸マグネシウム 9.5g
ステアリン酸マグネシウム 0.5g
上記成分をそれぞれ秤量した後、ステアリン酸マグネシウム以外の4成分を均一に混合する。ステアリン酸マグネシウムを加えた後さらに数分間混合する。混合粉体をNo.1のハードカプセルに200mgずつ充填し、カプセル剤とする。

【0114】実施例D：散剤
実施例9の化合物 20g
乳糖 79g
ステアリン酸マグネシウム 1g
上記成分をそれぞれ秤量した後、均一に混合して20%散剤とする。

【0115】実施例E：錠剤
実施例1の化合物 100g
ポリエチレングリコール1500 180g
ポリエチレングリコール4000 720g
実施例1の化合物を乳糖でよく研磨して微細な粉末とした後、結晶法によって1gの直腸坐剤とする。

【0116】実施例F：注射剤
実施例8の化合物 0.1g
塩化ナトリウム 0.9g
水酸化ナトリウム 適量
注射用滅菌蒸留水 100ml
上記成分をそれぞれ秤量した後、注射用滅菌蒸留水に溶解し、滅菌後10mlアンプルに5mlずつ分注し、密封して注射剤とする。

【0117】
【発明の効果】本発明のオリゴ糖導体は、強力なヒアルロニダーゼ阻害作用を示し、また、ラット肥満細胞から

800~4000の画分を集めて凍結乾燥した。凍結乾燥粉末40mgを超純水0.8mlにて溶解し、超純水にて平衡化し、高濃液体クロマトグラフィーシステム(A LC/SPC 204、ウォータース社製)に装置させたポリアニオンS1(ファーマシア社製)を充填したカラム(0.5×5.0cm)に吸着させた後、0~0.2M塩化ナトリウムによる直線濃度勾配溶出を行なった。0.1M塩化ナトリウム溶出画分をハイオゲルP-2(ハイオラッド社製)を充填したカラムを用いて吸出した後、凍結乾燥し、本発明のオリゴ糖である表題化合物を得た(実施例7の化合物からの収率：34.7%)。

分子量：600
実施例7と同様の方法により、クロン酸含量およびガラクトサミン含量を測定した。
クロン酸含量(%)：25.2
ガラクトサミン含量(%)：64.8
【0109】実施例9：
0-β-D-グルコピランウロシル-(1→3)-2-アセタミド-2-デオキシ-D-ガラクトピラノース：[C₁₂H₂₁O₁₁N]の製造
実施例8の化合物3mg/mlを含む超純水60μlにN-アセチル-β-D-ヘキシロサミニダーゼ125U/mlを含む0.1Mクエン酸-燐緩衝液(pH4.0)240μlを加え、37℃、48時間インキュベートした後、0.1M重碳酸アンモニウムにて中和したパイオゲルP-2(パイオラッド社製)を充填したカラム(2.6×100cm)を用いてゲル濾過した。分子尿200~600の画分を集めて凍結乾燥し、本発明のオリゴ糖である表題化合物を得た(実施例8の化合物からの収率：50.0%)。
分子量：397
実施例7と同様の方法により、クロン酸含量およびガラクトサミン含量を測定した。
クロン酸含量(%)：39.8
ガラクトサミン含量(%)：35.4
【0110】次に、本発明の化合物を含有する製剤の実施例を実施例A~Dにおいて示すが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。各実施例A~Dに用いられる本発明のオリゴ糖導体である化合物は、上述の実施例1、7、8、9の表題化合物である。

【0111】実施例A：錠剤
実施例7の化合物 10g
ポリエチレングリコール6000 10g
ラウリル硫酸ナトリウム 1.5g
コーンスターチ 3g
乳糖 25g
ステアリン酸マグネシウム 0.5g
上記成分を秤量した後、ポリエチレングリコール6000を70~80℃に加温し、これに実施例7の化合物、

のヒスタミン遊離抑制作用、ラットおよびモルモットにおけるアナフィラキシー気逆反射抑制作用、マウスPCA反応抑制作用など、炎症、アレルギーおよび喘息などのアレルギー性疾患およびアレルギー性疾患の治療に極めて有用である。また、本発明は、このような優れたオリゴ糖導体を製造するうえで有用な製造方法を提供するものである。

フロントページの続き
(51)Int. Cl.³
// C07H 13/06
15/10

識別記号 片内整理番号
F1

(7)発明者 西 島 和 三
東京都新宿区四谷一丁目7番地 特田製薬株式会社内

技術発表箇所